

Title	2-3 霊長類を用いた「瘀血(おけつ)」病態の分子生理学・分子生物学的解明(X.共同利用研究 2.研究成果)
Author(s)	後藤, 博三; 藤本, 孝子
Citation	霊長類研究所年報 (2008), 38: 91-92
Issue Date	2008-08-31
URL	http://hdl.handle.net/2433/166562
Right	
Type	Departmental Bulletin Paper
Textversion	publisher

M. fascicularis は *M. fuscata* と *M. mulatta* から顕著に判別できる標識点を発見できたが、これでは *M. fuscata* の地域差や雌雄差から *M. mulatta* を判別することができないことがわかった。このことから有効な標識点によって、種差だけでなく *M. fuscata* の地域差が判別できる可能性がでてきた。

1-8 霊長類の網膜黄斑に特異的に発現する遺伝子群の同定

古川貴久, 井上達也 (財) 大阪バイオサイエンス研究所)

ヒトを含めた霊長類の網膜は中心部に黄斑という特徴的な構造をもつ。黄斑部では、視細胞の中でも錐体細胞が高密度に存在し、これにより黄斑構造を持つ生物は良好な視力が得られる。実際、近年日本を含む先進国で増加傾向にある加齢性黄斑変性症などの黄斑疾患は、重篤な視力低下や失明の原因となっている。これまで、黄斑発生の分子メカニズムについての報告はほとんどみられない。われわれは、黄斑発生に関わる遺伝子群の同定を目的として、周産期のアカゲザルの網膜を黄斑部と周辺部に分けて採取し、それぞれの総 RNA についてマイクロアレイを用いて遺伝子発現を比較した。現在のところ、30 遺伝子のうち 9 遺伝子については少なくとも黄斑部の視細胞層に高い発現を認めた。これらのうち、我々は SREBP2 (sterol regulatory element binding protein 2) に着目している。SREBP2 は脂質代謝に関わる遺伝子群の発現を広範に制御することが知られる転写因子であり、in situ ハイブリダイゼーションによってマウス網膜においても発生期視細胞に発現を認める。現在 SREBP2 の DNA 結合ドメインである bHLH-ZIP ドメインに Engrailed のリプレッサードメインを融合したドミナントネガティブ変異体を作製し、これを網膜視細胞で強制発現するトランスジェニックマウスを作製し解析中である。

1-9 高次連合野成熟過程における連合野特異的遺伝子 (Rbp4) の発現変化の解析

小松勇介, 山森哲雄 (基礎生物学研究所)

レチノイドは、レチノール (ビタミン A アルコール) やレチノイン酸 (ビタミン A 酸) などを含む。レチノールは生体内で抗酸化作用があるだけでなく、酸化されてレチノイン酸となり、数多くの遺伝子発現制御に関わり、個体発生・発達において、重要な役割を果たしている。我々は成体マカクザルの連合野で高い発現を示すレチノール結合蛋白質 (RBP4) が新生仔の前頭前野 (高次連合野) において第 5 層の発現が未成熟であり、領野差の発現様式は生後発生で形成されることを以前に報告した。このことは生後における連合野の発達にはレチノイド代謝制御が要求される可能性を示唆する。そこで現在、他のレチノイド代謝関連分子も含め、生後の発現様式変化を解析中であるが、いくつかの遺伝子で RBP4 と同様に新生仔では第 5 層の発現様式が未成熟なものが見つかってきた。皮質第 5 層は皮質下神経核へ投射する神経細胞が存在しているので、今後これらレチノイド代謝関連遺伝子群の発現変化と、皮質だけではなく連合野の生後発生に関与する神経核での解剖学的変化などとの関連性を調べることを考えている。

2-1 MAP キナーゼ情報伝達経路の足場タンパク質 JLP に関する研究

善岡克次 (金沢大・がん研究所), 岩永飛鳥, 佐藤時春 (金沢大・院・医)

MAP キナーゼ情報伝達経路の足場タンパク質 JLP (別名 SPAG9; 足場タンパク質 JSAP1 のファミリーメンバー) は、ヒトやマカクサルでは成熟精子の先端部での発現が極めて高く、さらに、抗 JLP/SPAG9 抗体により精子と卵母細胞の結合が阻害されるとの報告が複数ある。しかし、遺伝子改変マウスをネガティブコントロールとした申請者らの解析では、全く異なる結果が得られている。そこで、申請者らが作製・精製した抗 JLP/SPAG9 抗体を用い、マカクサルの精巣および精巣上体における JLP/SPAG9 タンパク質について、免疫組織化学的解析を行った。その結果、マカクサル JLP/SPAG9 タンパク質は、マウスの場合と同様、精巣上体精子ではほとんど発現が認められず、精子細胞で高い発現を示すことが明らかになった。

2-2 サル類の加齢に伴う自然発生病変の病理学的解析 山手丈至 (大阪府立大・院・生命環境)

サル類はバイオメディカル研究における動物モデルとして近年注目されている。特に、医薬品開発における非臨床試験である安全性試験において、ヒトにより近いことからデータが外挿し易いことから、サル類のこれら研究における重要性が増している。このような研究において、加齢に伴って自然発生するサル類の多彩な病変を病理学的に解析し、その背景データを蓄積することは重要である。本年度は、昨年度から検査を進めてきた老齢の雌ニホンザル (28.5 歳) に発見された悪性中皮腫について、詳細な病理学的解析を行ったところ、貴重な所見が得られたことから短報として実験動物学会誌に発表した (以下)。また、雌のニホンザル (26 歳) に脾腫がみられ、それを病理学的に検査したところ血管由来の腫瘍が疑われた。そこで、血管内皮を特異的に染める抗体を用いて免疫組織化学的に精査したところ、明らかに血管内皮が異常に増殖していることが示された。さらに遺伝子解析を行ったところ抗凝固因子 (TFPI, TM) が上昇し、凝固系に異常があることが示された。本例は貴重な症例であることから、現在他の論文等における類似の報告を調査し、学術雑誌に発表すべく準備を進めている。Yamate J, Tomita A, Kuwamura M, Mitsunaga F, and Nakamura S. 2007 Spontaneous peritoneal malignant mesothelioma in a geriatric Japanese macaque (*Macaca fuscata*). Exp Anim. 56(2): 155-159.

2-3 霊長類を用いた「瘀血 (おけつ)」病態の分子生理学・分子生物学的解明

後藤博三 (富山大・院・和漢診療), 藤本孝子 (富山大・和漢薬研究所)

「瘀血」は東洋医学的病理概念の一つで、現代医学的には微小循環障害を主とする病態ととらえられている。その治療薬である当帰芍薬散の作用機序をアカゲザルを用い検討した。アカゲザルに 1g/head/day の当帰芍薬散エキスを経口投与した。2 ヶ月間投与後、肝生検を実施し、低酸素応答関連因子の遺伝子発現を RC-PCR 法を用い検討した。また、糞便を採取し、腸内細菌の変動を PCR 法により解析した。

その結果、肝組織において投与前に比較し、血管新生/抗血栓関連因子では、Tissue Factor Pathway Inhibitor と Thrombomodulin の増加を認めた。ステロイド/脂質/糖代謝関連因子では、HMG-CoA, SREBP-1c の増加と LDL-Receptor の減少を認めた。その他、IGF₁, COX₂, Annexin-1, SOD の増加と IGFBP₃ の減少を認めた。腸内細菌の検討では、Ruminococcus や Desulfovibrio の遺伝子発現の増加が認められた。

以上のことから、当帰芍薬散は、抗血栓/抗酸化作用による微小循環改善作用を有し、脂質代謝、成長ホルモン産生、炎症関連因子など多彩な影響を生体に及ぼしていることが示唆された。また、腸内細菌叢にも変化を認めたことから宿主の恒常性維持にも影響を及ぼす可能性が示唆された。

2-4 霊長類の儉約遺伝子

竹中晃子 (名古屋文理大・健康生活)

エネルギー儉約遺伝子多型は、消費エネルギーを減少させる SNP のことである。β3AR 遺伝子の 64Trp → Arg 多型の頻度は民族により異なり、モンゴロイドは 0.4-0.2, 白人で 0.08 であり、ヘテロ接合型の人は消費エネルギーが 200kcal / 日節約され肥満を誘発する傾向がある。霊長類の β3AR 多型を検討したところ、調べたチンパンジー 35 頭 (霊長研 5 頭, 三和化学 30 頭), ゴリラ 8 頭, オランウータン (マレーシア) 16 頭, さらに、ニホンザル 27 頭, アカゲザル 21 頭, カニクイザル 18 頭, ボンネットモンキー 2 頭, フサオマキザル 2 頭, クモザル 1 頭も全て Arg 型であった。氷河期を生き延びた霊長類は儉約型を有し、消費エネルギーを減少させずに、厳しい食物環境に際しても生存可能なように適応していると考えられた。ヒトでは類人猿と分岐した後 Trp 型が出現したことにより、寒暖の差が激しいサバンナにおいて体毛を失った人類の祖先は発熱による体温上昇で内臓を守ることができた。しかし、消費エネルギーは増加するため、栄養価の高い動物を狩猟により取り入れたこと、火を使用したことにより氷河期にも生存可能になり、世界へ拡散できたのではないかと考えられる。なお、ヒト, チンパンジー, アカゲザルの塩基配列比較からヒト特異的変異がさらに 2 か所あり、ヒトでの進化速度が速くなっていた。これらの変異についても現在検討中である。

3-1 野生ニホンザルにおける毛づくろいの音声使用の様態に関する調査

菅谷和沙 (神戸学院大・院・人間文化)

宮城県金華山島と鹿児島県屋久島に生息するニホンザルのオトナメスを対象に、毛づくろいの音声使用を調べ、比較した。2007 年 9 月から 11 月に金華山島の A 群と B 群を、2008 年 3 月に屋久島の Donguri 群をそれぞれ調査した。各群れからオトナメスを 6 頭ずつ選び、1 個体につき 10 時間ずつ、個体追跡法を用いて観察した。特に 2m 以上離れていた個体が接近後に始めた毛づくろいに注目して分析を行った。これまでに収集したデータをもとに、金華山島では非交尾期と交尾期、屋久島では個体数の少ない群れと多い群れにおける音声使用を比較する。

調査の結果、金華山島の群れでは 2 ヶ月間にみられた

毛づくろいの相手の数が非交尾期 (平均 6 個体) よりも交尾期 (平均 13 個体) の方が多いことが明らかになった。毛づくろいの頻度も非交尾期 (0.6 回/h) よりも交尾期の方が高かった (1.2 回/h)。ところが、毛づくろいの発声率は非交尾期 (約 60%) よりも交尾期 (約 30%) の方が低かった (Fisher's exact test, $p < 0.001$)。屋久島の群れでは毛づくろいの頻度は個体数の多い群れ (1.0 回/h) よりも少ない群れ (1.5 回/h) の方が高かった。発声率は個体数の多い群れ (約 35%) よりも少ない群れ (約 31%) の方が低かったが有意な差ではなかった (Fisher's exact test, $p > 0.05$)。

非交尾期に比べて毛づくろいの相手の数が多い交尾期には、交渉の増加に伴い、個体間の緊張が増加する可能性がある。それに関わらず、交尾期の発声率が高かったことから、普段避け合っている個体間での緊張を緩和するために毛づくろいに声を出すという従来の仮説 (Mori, 1975) は支持されなかった。また、非交尾期と交尾期、個体数の少ない群れと多い群れのいずれの比較からでも、毛づくろいの頻度が低いほど発声率が高いことが明らかになった。これまで、毛づくろいの音声は 1 個体対 1 個体の近距離音声である (Itani, 1963) と言われてきたが、遠距離音声のような大きな音量の声が使用されることもある。これらのことから、毛づくろいの頻度が低いという状況では、目の前の相手に対してだけでなく、群れ内のほかの個体に対しても毛づくろいの意図を伝えたり、毛づくろいを促したりする必要があることが示唆された。

3-2 幼児の他者の認知的状態、確信度への言及の発達

鈴木めぐみ (国際基督教大学・教育)

本研究では、幼児の他者の信念理解の発達について言語産出の面から検討している。子どもの心的状態に関する認知発達をとらえる方法として、子どもの産出する、心的状態を表す表現を分析して、認知的な発達を量するという方法がある。先行研究からは、他者の欲求に関する表現が信念の表現に先行し、それに続いて意図やそれに基づく行為の予測に関する表現が出現することが分かっている。そこで今回は、高次の心的状態の理解の発達段階にある 5 歳児 (5; 01-5; 11) 17 名を対象に、文字のない絵本の筋書きを語る場面における、主人公や自身の心的状態への自発的な言及を分析する。

ナラティブ産出は、心的語彙 (①信念語 ②欲求語 ③感情状態語 ④因果関係 ⑤意図 ⑥定判断/不定判断モダリティ ⑦確認要求 ⑧注意喚起 ⑨引用) および確信度を表すイントネーションの観点から分析する。5 歳児では登場人物の信念、欲求、感情を表す語彙の使用数が意図を表す語彙の使用数を上回ることで、また、イントネーションを使用しての登場人物の確信度の表現は、発達段階にあることが予測されている。現在、発話データの書き起こしと分析を進めている最中である。今後、4 歳児および、6 歳児のデータを取り、幼児期を通じての発達的变化を検討する予定である。また、今回得られたデータを JCHAT の形式に変換し、データベース化して保存する準備を進めている。

3-3 テナガザル音声の地域間変異に関する音響分析

田中俊明 (梅光大・子ども)

スマトラ島 (①Peg. Bukit Tiga Pulu, ②Sijunjung,